Pêches et Océans Canada | Fisheries and Oceans Canada
Sciences | Science

Région de la capitale nationale

Secrétariat canadien de consultation scientifique
Réponse des Sciences 2014/042

# AVIS RELATIF À L'ÉCHANTILLONNAGE DE CARCASSES DE POISSONS SAUVAGES DANS LE CADRE DE LA NORME DE SURVEILLANCE DE L'AQUACULTURE DU PROJET DE *RÈGLEMENT SUR LES ACTIVITÉS LIÉES À L'AQUACULTURE*

## Contexte

La Direction générale de la gestion de l'aquaculture (DGGA) de Pêches et Océans Canada élabore actuellement le *Règlement sur les activités liées à l'aquaculture* (RAA) conformément aux articles 35 (protection des pêches) et 36 (l'immersion ou rejet de substances nocives) de la *Loi sur les pêches* en vue de gérer les impacts potentiels sur la pêche et l'habitat du poisson découlant des activités aquacoles (c.-à-d. l'immersion ou le rejet de substances nocives, notamment de drogues, de produits de lutte contre les agents pathogènes et les parasites ainsi que l'immersion de matière exerçant une demande biochimique d'oxygène [DBO]).

La norme de surveillance de l'aquaculture du RAA est en cours d'élaboration par la DGGA pour soutenir la mise en œuvre du RAA. Cette norme sera intégrée par renvoi et les procédures et méthodes présentées seront exécutoires. Dans l'ensemble, la Norme doit permettre aux détenteurs de permis d'aquaculture, à leurs employés et leurs agents partout au Canada de se conformer aux exigences en matière de surveillance relatives à l'immersion de substances nocives tel que décrit dans le RAA.

La DGGA demande un avis scientifique orientant les protocoles à suivre au moment de recueillir des carcasses de poisson aux fins d'analyses des agents chimiothérapeutiques à la suite d'une mortalité ou morbidité inhabituelle du poisson. Aucun examen scientifique exhaustif du RAA ou de la Norme connexe n'a été demandé et cela n'est pas compris dans le cadre de la présente réponse des Sciences.

La présente réponse des Sciences découle du processus de réponse des Sciences du 10 juillet 2014 sur la Formulation d'un avis relatif à l'échantillonnage de carcasses de poisson dans le cadre de la norme de surveillance de l'aquaculture du *Règlement sur les activités liées à l'aquaculture*.

## Renseignements de base

Le projet de *Règlement sur les activités liées à l'aquaculture* (RAA) établit les conditions dans lesquelles le propriétaire ou l'exploitant d'une installation d'aquaculture peut immerger ou rejeter des drogues ou des produits antiparasitaires. Selon une de ces conditions, si l'on observe une morbidité ou une mortalité de poissons inhabituelle à l'extérieur de l'installation d'aquaculture dans les 96 heures suivant l'immersion ou le rejet de drogues ou de produits antiparasitaires, le propriétaire ou l'exploitant doit alors obtenir des échantillons de tissu des poissons touchés conformément à la méthode précisée dans la norme de surveillance de l'aquaculture.

La norme de surveillance de l'aquaculture soutiendra la mise en œuvre de la surveillance environnementale et des conditions d'échantillonnage prévues dans le projet de RAA. Cette norme sera intégrée par renvoi et les procédures ainsi que les méthodes y étant présentées seront exécutoires.

Une demande d'avis scientifique a été formulée par la Direction générale de la gestion de l'aquaculture (DGGA) pour servir de base à l'élaboration de la norme de surveillance de l'aquaculture pour ce qui est des protocoles d'échantillonnage et des considérations concernant l'analyse des agents chimiothérapeutiques afin d'étayer la condition susmentionnée dans le RAA à propos de l'immersion ou le rejet de drogues et de produits antiparasitaires. Le Groupe consultatif national sur les contaminants (GNCC) a dirigé l'élaboration du présent avis scientifique.

Les renseignements fournis répondent à la demande d'avis suivante :

> *Quelles sont les procédures à suivre pour recueillir les carcasses de poisson sauvage aux fins d'analyses chimiques des ingrédients actifs trouvés dans des produits chimiothérapeutiques servant à la lutte contre le pou du poisson? Au minimum, les procédures recommandées devraient aborder la manière dont le personnel de l'installation aquacole doit recueillir le poisson mort ou dans un état morbide, le cas échéant, le nombre de poissons à recueillir, la manipulation et la préservation des échantillons prélevés, les délais relatifs à la collecte et à la préservation, ainsi que la manière de transmettre les échantillons au laboratoire aux fins d'analyse. L'avis servira aussi à définir les limites associées à la collecte d'échantillons de poissons aux fins d'analyse en tenant compte du fait que la demande d'analyse peut cibler des ingrédients actifs contenus dans tous des produits chimiothérapeutiques de lutte contre le pou du poisson actuellement utilisés au Canada.*

Ces protocoles ne sont pas rapidement et facilement utilisables à l'heure actuelle. Selon le cadre des exigences du RAA, il est nécessaire d'élaborer un protocole visant spécifiquement à la collecte de ces échantillons de tissu. Pour répondre à cette demande, il est entendu que les protocoles de surveillance et d'échantillonnage précisés dans la norme de surveillance de l'aquaculture seront utilisés par les titulaires de permis d'aquaculture, leurs employés ainsi que leurs agents partout au Canada afin de satisfaire aux exigences liées à l'immersion ou le rejet de substances nocives qui sont énoncées dans le projet de *Règlement sur les activités liées à l'aquaculture* (voir article 34 de la *Loi sur les pêches* pour une définition de substance nocive).

Le Secteur des sciences du MPO a fourni à la DGGA des avis antérieurs du SCCS sur l'exposition potentielle et effets biologiques connexes issus des traitements des parasites et des agents pathogènes en aquaculture (DFO 2013a, DFO 2013b). Ces avis décrivaient les effets toxiques létaux et sublétaux de quatre pesticides contre le pou du poisson sur les principaux organismes indigènes non ciblés (invertébrés) à l'aide de tests de toxicité en laboratoire. Les possibilités d'une exposition des organismes indigènes non ciblés à des concentrations importantes, pertinentes sur le plan biologique, de pesticides contre le pou du poisson à la suite des traitements ont également été évaluées. En général, les effets sur les organismes non ciblés variaient selon la formulation utilisée, et le homard était la plus sensible de toutes les espèces testées.

## Analyse et réponse

### Quels échantillons de tissu de poisson devraient être recueillis au site aquacole aux fins d'analyse des agents chimiothérapeutiques?

L'avis sur la collecte des échantillons part du principe que les échantillons seront recueillis par le titulaire du permis d'aquaculture, ses employés ou leurs agents.

Par souci d'uniformité et pour maintenir l'intégrité des échantillons, la dissection de poissons et la préparation des tissus spécifiques aux fins d'analyse devraient se faire dans le laboratoire analytique choisi, selon une méthode normalisée en fonction des exigences analytiques, de l'espèce et du stade biologique. Les exigences spécifiques au tissu, y compris le type de tissu,

la quantité de tissu ainsi que les mesures de manipulation nécessaires, dépendent des propriétés des agents chimiothérapeutiques en question et des méthodes d'analyse qu'il nécessite.

Plutôt que de faire disséquer les poissons et prélever les échantillons de tissu par les aquaculteurs, il est recommandé de recueillir les poissons entiers et de les congeler en les manipulant le moins possible. Les installations d'aquaculture représentent une source de contamination, puisque c'est à cet endroit que les traitements ont lieu et que les agents thérapeutiques sont entreposés. Ainsi, l'échantillonnage devrait être mis en place de manière à réduire les possibilités de contamination croisée. Une expertise pertinente et un milieu « propre » sont nécessaires pour le prélèvement de tissus; les échantillons pourraient être compromis lorsque ceux-ci font défaut.

Recommandation relative à l'échantillonnage et la préparation de tissus

En résumé, pour éviter la contamination et assurer une approche uniforme et normalisée, il est recommandé de recueillir le poisson entier, de le congeler sur place et de l'expédier ensuite au laboratoire aux fins de traitement et d'analyse.

### Combien de poissons devraient être recueillis?

Des trois agents chimiothérapeutiques pris en compte, seuls l'émamectine et les produits chimiques connexes sont suffisamment persistants (leur demi-vie est de l'ordre de plusieurs semaines; Horsberg 2012), pour justifier l'analyse des résidus qui pourrait établir un lien entre la mortalité et la présence de l'agent chimiothérapeutique. Cependant, afin d'établir un lien entre un cas de mortalité et l'exposition présumé à une drogue, il faudrait, au moins, un échantillonnage et une analyse parallèle de poissons de « référence » *n'ayant pas* de toute évidence été exposés à l'émamectine. Afin de calculer le nombre minimum d'échantillons nécessaires (c.-à-d., la taille de l'échantillon) pour établir une relation convaincante entre la répartition des résidus et la mortalité, on a besoin des données suivantes : (i) les concentrations moyennes de résidus et (ii) leur écart-type (ÉT) dans les groupes de poissons « touchés » et « de référence »; (iii) la puissance statistique désirée (généralement établie arbitrairement à 0,8); le taux d'erreur de type 1 (généralement établi arbitrairement à 0,05). *Veuillez noter qu'on ne peut généralement pas prévoir les variables (i) et (ii) et qu'il faudra les déterminer empiriquement durant ou après un événement.* Cependant, Glover *et al.* (2010) ont mesuré les concentrations du résidu d'émamectine chez le saumon de l'Atlantique suite à une injection intrapéritonéale, à un débit de dose à peu près équivalente à la dose thérapeutique; ces données ont permis d'estimer d'une manière approximative le nombre d'échantillons nécessaires. L'annexe 1 montre en détail les calculs pour déterminer le nombre d'échantillons nécessaires à l'aide de l'approche statistique de Rosner (2010) et à partir de la concentration moyenne du résidu d'émamectine et de la variance rapportées par Glover *et al.* (2010). En supposant que le chercheur désire détecter des concentrations 5 fois plus élevées chez le groupe de poissons touchés que chez le groupe de référence, et que l'on établit la puissance statistique à 0,8 et le taux d'erreur de type 1, à 0,05, avec une variance de 50 % des valeurs moyennes, il faudrait 5 échantillons de chaque groupe. Cependant, si la variance s'élevait, par exemple, à 100 % de la moyenne, il faudrait 13 échantillons de chaque groupe; avec une variance de 200 % de la moyenne, il faudrait 51 échantillons de chaque groupe (figure 1). On observe un effet semblable si le nombre d'échantillons nécessaires (par groupe) est calculé pour un éventail d'écarts des moyennes des groupes et en établissant la puissance statistique à 0,8, le taux d'erreur de type 1 à 0,05, et l'ÉT combiné à 100 % des moyennes. Si, au lieu d'une moyenne 5 fois plus élevée chez le groupe de poissons touchés, le chercheur souhaite une moyenne 2 fois plus élevée, la taille de l'échantillon sera de 40 échantillons par groupe.

Les données de Glover *et al.* (2010) provenaient d'une étude expérimentale contrôlée en laboratoire; sur le terrain, la variance sera certainement plus élevée. Par ailleurs, la dose thérapeutique d'émamectine administrée dans la nourriture représente environ 14 % de la dose toxique pour le saumon de l'Atlantique (Bright et Dionne 2005). Par conséquent, une surdose ou un rejet accidentels entraînant une mortalité indiquerait des concentrations relativement importantes d'émamectine, ce qui se traduirait par une variance encore plus élevée des concentrations de résidus. La dose toxique varie d'une espèce à l'autre. Les données résumées dans l'annexe 1 montrent que, si la variance est de 100 % des valeurs moyennes, il faudra 13 échantillons par groupe pour détecter une moyenne 5 fois plus élevée chez le groupe de poissons touchés comparée au groupe de référence. Si la variance était plus élevée, ou si la moyenne du groupe de poissons touchés était inférieure à 5 fois plus élevée , il faudrait un nombre considérablement plus élevé d'échantillons.

Les échantillons des poissons touchés doivent refléter la taille, l'âge et la répartition de l'espèce du poisson touché. L'échantillon de référence devrait être constitué de poissons semblables à ceux du groupe de poissons touchés en ce qui a trait à l'espèce, à la taille, etc..

Les échantillons de référence devraient être recueillis à peu près au même moment, dans la mesure du possible, mais à une certaine distance du lieu où l'on a observé une morbidité ou une mortalité inhabituelle.

### Recommandation relative au nombre de poissons à échantillonner

Une recommandation pratique raisonnable serait *d'échantillonner et de conserver aux fins d'analyse environ 50 poissons de chacun des deux groupes (groupe de poissons touchés et groupe de référence) de chaque espèce touchée, et de commencer par en analyser 15 de chaque groupe afin d'établir la moyenne et la variance dans chaque cas*; on sera alors en mesure de décider si des analyses supplémentaires sont nécessaires pour affiner les analyses statistiques.

Les échantillons des poissons touchés doivent refléter la taille et la répartition de l'espèce de poisson touché. L'échantillon de référence devrait être constitué par des poissons d'espèce et de taille semblables à ceux du groupe de poissons touchés.

## Quelles sont les méthodes privilégiées pour la collecte, la préservation des échantillons et leur transport d'un site aquacole à un laboratoire?

En vertu du RAA en vigueur, lors toute mortalité ou d'une morbidité inhabituelle (suivant la définition de poisson de la *Loi sur les pêches*) observée dans les environs de l'installation aquacole dans les 96 heures suivant l'immersion ou le rejet de drogues ou de pesticides, le poisson concerné doit être recueilli. Tel que mentionné dans la partie « *Limites et éléments à prendre en considération*», l'échantillonnage comporte des limites sur le plan pratique qui ne permettent pas de couvrir tous les aspects de la définition; ainsi, l'avis relatif à l'échantillonnage portera sur les poissons à nageoires, les bivalves et les crustacés.

Lors de l'exécution des procédures d'échantillonnage décrites ci-dessous, toutes les procédures de sécurité reconnues et les exigences relatives à la manipulation, etc., doivent être respectées. Les sections qui suivent fournissent des recommandations concernant la collecte, la préservation et l'expédition des échantillons, le maintien de l'intégrité des échantillons, les exigences liées à l'échantillonnage sur le terrain ainsi que le matériel d'échantillonnage suggéré.

## Collecte, préservation et expédition des échantillons

### *Collecte*

1. En préparation de l'échantillonnage, nettoyez les congélateurs et l'équipement à l'aide d'un détergent de laboratoire ne laissant aucun résidu, puis rincez l'équipement trois fois avec de l'eau distillée ou de l'eau du robinet.
2. Immédiatement avant tout traitement chimiothérapeutique, préparez l'ensemble de l'équipement et les fournitures d'échantillonnage requis tel que décrit à la section *Équipement et fournitures d'échantillonnage suggérés*, puis transférez le tout au bateau de collecte qui devrait être prêt pour un déploiement rapide.
3. Lorsqu'un cas de morbidité ou de mortalité inhabituelle du poisson est observé, peu importe l'espèce et le stade biologique, le personnel sur place doit immédiatement déployer le bateau de collecte pour localiser le poisson et débuter l'échantillonnage.
4. Tout au long du processus de collecte, des notes de terrain doivent être consignées dans des formulaires d'enregistrement normalisés afin de documenter les variables liées aux données recueillies sur le terrain décrites ci-dessous dans la section *Exigences relatives aux données recueillies sur le terrain*.
5. Si possible, enregistrez sur vidéo le comportement du poisson moribond et incorporez l'étiquette d'identification de l'échantillon dans les images.
6. À l'aide d'une épuisette, sortez le poisson de l'eau, puis abattez immédiatement tout poisson à nageoire vivant en utilisant un bâton de bois propre ou un outil équivalent. La seule exception concerne les crustacés, lesquels doivent être refroidis à l'aide de glace jusqu'à ce qu'ils soient suffisamment engourdis. Pendant le refroidissement et l'expédition, limitez autant que possible l'exposition à l'eau douce.
7. À l'aide de gants en nitrile stériles, posez le poisson sur un morceau de papier d'aluminium propre, puis notez les observations décrites ci-dessous dans la section *Exigences relatives aux données recueillies sur le terrain*.
8. Protégez l'intégrité du poisson en vous assurant de ne pas endommager son enveloppe extérieure (peau, coquille ou carapace) et ses branchies. Les dommages externes constituent des points d'entrée pour la contamination et peuvent entraîner des pertes de fluide, lesquelles engendrent une variabilité dans les résultats analytiques.
9. Prenez des images numériques de tous les poissons en vous assurant de photographier toutes les anomalies morphologiques et tous les parasites, et en incorporant l'étiquette d'identification de l'échantillon dans les images.
10. Des individus touchés de la même espèce et d'une taille représentative doivent être recueillis, jusqu'à un maximum de 50 individus par espèce. Reportez-vous à la section *Combien de poissons faut-il recueillir?* Pour vous référer aux considérations analytiques et aux recommandations concernant la collecte des individus de référence.
11. Tant que possible, les individus de référence de la même espèce et de taille similaire doivent être recueillis en mêmes quantités, en dehors de la zone d'impact de l'aquaculture. La collecte doit être effectuée suivant les recommandations en matière d'échantillonnage fournies dans le présent document.

***Préservation***

12. Enveloppez chaque individu dans deux couches de papier d'aluminium robuste, puis mettez chaque échantillon dans un double sac, en utilisant des sacs stériles et de format approprié. Assurez-vous de mettre l'étiquette d'identification de l'échantillon dans le sac extérieur et de sceller les sacs à l'aide d'attaches autobloquantes. Avant l'emballage, placez des bouchons de liège propres sur les grosses épines de la carapace.
13. Pendant la collecte, entreposez les poissons emballés sur de la glace dans une glacière.
14. Continuez de recueillir les poissons morts ou moribonds observés dans les environs du site aquacole en utilisant, pour chaque individu, de nouveaux gants, une nouvelle feuille d'aluminium et un bâton de bois propre (voir numéro 1).
15. Une fois cela terminé, transportez immédiatement tous les poissons à un congélateur propre fonctionnant à -20 °C ou moins.

***L'expédition***

16. Dès que les poissons sont complètement gelés, dans un délai d'une à deux semaines[1] après leur collecte, ils doivent être empaquetés dans des glacières contenant de la glace, de la glace sèche, ou des blocs réfrigérants, etc. pour s'assurer qu'ils demeurent congelés, puis expédiés afin d'être analysés, tel que décrit dans la section *Préservation de l'intégrité des échantillons*.
17. De plus, un échantillon de l'agent chimiothérapeutique ayant été utilisé doit être fourni au laboratoire d'analyse; on doit demander à ce dernier la quantité requise et les directives relatives à l'entreposage et l'expédition.
18. Des copies des formulaires d'enregistrement remplis sur le terrain doivent accompagner l'envoi des échantillons au laboratoire d'analyse. Avant l'expédition des échantillons, le laboratoire doit être mis au courant des détails concernant la soumission d'échantillons et de la demande d'analyse.
19. Les formulaires d'enregistrement originaux et les images numériques doivent être entreposés dans une armoire sécurisée jusqu'à ce qu'ils soient soumis au ministre.

## Préservation de l'intégrité des échantillons

Il est crucial de préserver l'intégrité des échantillons pour prévenir leur mise en péril et de garantir l'exactitude de l'analyse. Les installations aquacoles constituent une source de contamination chimiothérapeutique, aux endroits où le traitement a lieu ou aux endroits où les agents thérapeutiques sont entreposés. Les considérations suivantes aident à préserver l'intégrité des échantillons :

1. Les échantillons ainsi que les fournitures et l'équipement d'échantillonnage doivent être entreposés dans un environnement propre, loin des agents thérapeutiques, de façon à réduire le risque de contamination. Pour prévenir celle-ci, il est préférable d'entreposer les fournitures d'échantillonnage dans des contenants sellés et étanches.

[1] La dégradation des analytes cibles comme le benzoate d'émamectine ralentit de façon importante une fois le poisson congelé; on recommande néanmoins d'expédier les échantillons dès que possible, dans un délai d'une à deux semaines, afin d'éviter que des situations imprévues (p. ex., panne de courant, défectuosité de l'équipement) compromettent les échantillons.

2. Tout le matériel doit être nettoyé à l'aide de détergents de laboratoire ne laissant aucun résidu, puis rincé trois fois avec de l'eau distillée ou de l'eau du robinet entre les séances d'échantillonnage, et lorsqu'il y a possiblement eu exposition directe aux agents thérapeutiques ou exposition indirecte par l'entremise de la poussière ou de la vapeur d'eau.
3. Pendant la collecte, il est important de protéger l'intégrité des poissons, en s'assurant que ceux-ci ne présentent pas de lacération sur la peau, la coquille et la carapace, et en s'assurant de ne leur causer aucun dommage externe. Les lacérations externes constituent des points d'entrée pour la contamination et peuvent entraîner des pertes de fluides.
4. Il est important de suivre les recommandations relatives à la collecte, à l'entreposage et au transport. Les échantillons doivent être entreposés dans un endroit à basse température, afin de prévenir la dégradation des analytes cibles. Pendant la collecte, les poissons doivent être conservés dans des sacs étalés sur de la glace. Il faut ensuite les congeler sur place, dès que possible, à une température de -20 °C, afin de les entreposer. Une fois congelés, les échantillons doivent demeurer à une température constante.
5. Pendant le transport jusqu'au laboratoire, les poissons congelés doivent être empaquetés dans des glacières contenant une bonne quantité de fluide frigorigène adéquat (de la glace, de la glace sèche, des blocs réfrigérants, etc.). La quantité de glace sèche requise doit tenir compte du poids de l'échantillon ainsi que du temps d'expédition prévu, et être calculée en fonction des conseils des fournisseurs de glace sèche.
6. Un formulaire de chaîne de possession rempli doit accompagner tout envoi. Ce formulaire devrait être fourni par le laboratoire d'analyse, sur demande, avant tout envoi. Les formulaires sont mis à jour lorsque les échantillons sont confiés à un autre responsable. Le gestionnaire de l'aquaculture doit conserver une copie du formulaire de chaîne de possession avec les documents relatifs à l'échantillonnage et le laboratoire doit conserver une copie du formulaire dans ses dossiers de projet. Cela permet d'avoir un historique complet de la responsabilité des échantillons et de s'assurer que les échantillons analysés sont bel et bien ceux notés ayant été prélevés à un moment et à un endroit donnés (p. ex., les résultats de l'analyse d'un échantillon de poisson représentent avec exactitude le poisson tel qu'il était au moment et à l'endroit où il a été recueilli).
7. Certaines lignes directrices doivent être suivies lorsque les poissons sont expédiés avec de la glace sèche. Ainsi, des sociétés d'expédition devraient être consultées avant l'envoi. Les envois doivent être expédiés le lundi, afin d'éviter les retards dus à la fin de semaine et, de ce fait, des délais d'expédition plus longs que prévu ce qui pourrait entraîner une hausse de la température des échantillons et ainsi les mettre en péril. Pour le transport des poissons congelés, on recommande d'utiliser les méthodes d'expédition accélérée et les options de suivi d'envoi.
8. Suggestions pour la préparation des envois comportant de la glace sèche (*source : UPS*) :
   (i) Remplissez les espaces vides dans le colis à l'aide de matériel d'emballage approprié, afin d'empêcher que le produit se déplace pendant le transport.
   (ii) Évitez d'expédier des produits sensibles à la température pendant la fin de semaine.
   (iii) Emballez le fluide frigorigène dans du papier ou un autre carton, pour ralentir le taux de fonte et éviter qu'il y ait trop d'espace quand vous utilisez de la glace sèche.

(iv) Ne placez pas le fluide frigorigène au fond de l'emballage, car cela empêcherait l'air froid de circuler.

(v) Lorsque vous utilisez de la glace sèche, ne scellez pas le contenant isolé intérieur. Une ventilation est requise, pour qu'une certaine quantité de dioxyde de carbone puisse s'échapper du colis.

### Exigences relatives aux données recueillies sur le terrain

Pour obtenir une interprétation correcte des résultats d'analyse, il est important de recueillir toutes les données de terrain essentielles en suivant une méthode uniforme et normalisée, ce qui exige l'utilisation de procédures, d'étiquettes et de formulaires précis. Les formulaires de collecte des données doivent comprendre (entre autres) les renseignements précis énumérés ci-dessous. Les étiquettes d'identification individuelles qui accompagnent les échantillons pendant l'entreposage et le transport doivent être conçues de manière à correspondre à celles des formulaires de collecte des données. On recommande d'utiliser des stylos à encre ineffaçable ainsi que du papier et des étiquettes imperméables adaptées au travail sur le terrain. Les images numériques de poissons prises lors de la capture aideront à évaluer les anomalies morphologiques et à identifier les espèces au moment de la collecte. Le formulaire d'identification de l'échantillon doit être inclus dans l'image. Les enregistrements vidéo du comportement des poissons moribonds peuvent s'avérer utiles lors de l'interprétation des symptômes d'exposition à certains produits chimiques.

Les renseignements spécifiques requis comprennent :

1. Nom du site aquacole et de l'entreprise
2. Nom et coordonnées du gestionnaire du site
3. Nom de l'employé responsable de l'échantillonnage et nom des membres de l'équipage
4. Profondeur et coordonnées GPS du site aquacole
5. Espèce, taille, classe d'âge et biomasse des poissons sur le site au moment du traitement
6. Produit chimiothérapeutique, méthode d'application, concentration utilisée, quantité de produit utilisée et étape d'utilisation à laquelle a observé des poissons affectés
7. Date et heure de la collecte
8. Heure et endroit où le cas de morbidité ou de mortalité inhabituelle du poisson a été observé pour la première fois ainsi que le nom du ou des observateurs
9. Heure et endroit (coordonnées GPS) où les poissons ont été recueillis; nom des personnes qui les ont recueillis
10. Température de l'eau de surface au moment de l'échantillonnage au site aquacole
11. Conditions météorologiques et température de l'air
12. Méthode d'échantillonnage
13. Numéro d'identification du poisson
14. Numéro de la photo

15. Mesures de la longueur[2]
16. Poids total (g)
17. Espèce, si identifiable
18. État : vivant ou mort; s'il est vivant, décrivez le comportement observé. Si possible, ajoutez une vidéo du comportement moribond
19. Anomalies morphologiques observées : les dommages aux tissus, les anomalies de croissance, les lacérations, l'érosion des nageoires, les ulcères de la peau, les néoplasmes
20. Quantité et type d'ectoparasites
21. Données sur les conditions d'entreposage et de transport (c.-à-d., temps passé à température ambiante, temps passé sur la glace au moment de la collecte et durée de l'entreposage à -20 °C avant expédition).

## Équipement et fournitures d'échantillonnage suggérés

Le tableau ci-dessous est un résumé du matériel suggéré pour effectuer la collecte de poissons à différents stades de vie advenant que vous rencontriez un cas de morbidité ou de mortalité inhabituelle du poisson à proximité d'une installation aquacole.

[2] Mesurez chaque poisson à nageoires afin de déterminer sa longueur à la fourche et sa longueur totale (en mm). La longueur totale se mesure de l'extrémité du museau du poisson à l'extrémité du rayon le plus long de la nageoire caudale. La longueur à la fourche est la distance de l'extrémité du museau du poisson au rayon moyen (fourche) de la nageoire caudale. Les mesures des dimensions des mollusques et des crustacés varient d'une espèce à l'autre; dans le cas des mollusques bivalves, la hauteur se mesure à partir de l'umbo à l'extrémité antérieure (ventrale) de la coquille; dans le cas des crabes, on mesure la largeur latérale totale de la carapace; dans le cas des crevettes, la longueur de la carapace se mesure à partir de la pointe du rostre jusqu'à l'extrémité postérieure de la carapace et la longueur totale se mesure à partir de la pointe du rostre jusqu'à l'extrémité postérieure du telson; pour ce qui est des homards, la longueur de la carapace se mesure à partir de l'arrière de l'orbite de l'oeil jusqu'à l'extrémité postérieure de la carapace (USEPA 2000).

*Tableau 1 : Matériel recommandé pour la collecte, la préservation et le transport des spécimens à faire analyser.*

| Description de l'article | Quantité requise | Entreposage sur place |
|---|---|---|
| Réservoir portatif étanche | Selon les besoins | Environnement intérieur propre |
| Sac transparent stérile de 1 m x 0,3 m (environ) | 500 | Réservoir portatif étanche |
| Sac transparent stérile de 50 cm x 25 cm (environ) | 500 | Réservoir portatif étanche |
| Sac transparent stérile de 15 cm x 7 cm (environ) | 500 | Réservoir portatif étanche |
| Attache autobloquante | 500 | Réservoir portatif étanche |
| Formulaire de données de terrain résistant à l'eau | 500 | Réservoir portatif étanche |
| Étiquette d'identification résistante à l'eau | 500 | Réservoir portatif étanche |
| Stylo à encre ineffaçable ou crayons | 10 | Réservoir portatif étanche |
| Planchette à pince | 3 | Réservoir portatif étanche |
| Épuisette marine pour gros poissons | 1 | Environnement intérieur propre |
| Épuisette marine pour petits poissons | 1 | Environnement intérieur propre |
| Gant en nitrile jetable | 1 boîte de 500 unités | Réservoir portatif étanche |
| Dispositif GPS pour activités extérieures | 1 | Environnement intérieur propre |
| Appareil photo numérique | 1 | Environnement intérieur propre |
| Ruban à mesurer | 2 | Réservoir portatif étanche |
| Balance analytique portative conçue pour le travail sur le terrain | 1 | Réservoir portatif étanche |
| Lampe de poche | 1 | Réservoir portatif étanche |
| Glacière | 2 | Environnement intérieur propre |
| Congélateur bahut (-20 °C) | 1 | Environnement propre |
| Glace | 10 sacs | Congélateur |
| Blocs réfrigérants | 20 | Congélateur |
| Instrument contondant (bâton de bois) | 1 | Réservoir portatif étanche |
| Papier d'aluminium | 500 m | Réservoir portatif étanche |

## Considérations analytiques à prendre en compte lors de l'échantillonnage visant à analyser les ingrédients actifs des agents chimiothérapeutiques d'usage courant présents dans les tissus du poisson

lors de la collecte des poissons aux fins de l'analyse des ingrédients actifs des produits chimiothérapeutiques de lutte contre le pou du poisson présents dans les échantillons de tissu, il est important de tenir compte de toute contrainte relative aux analytes cibles. Ici, on entend par produits d'usage courant les produits homologués, ceux dont l'homologation a été proposée et ceux utilisés en vertu des dispositions canadiennes d'émission d'urgence, lesquels comprennent les produits SLICE®, Paramove® et Salmosan®. Vous trouverez ci-dessous une brève description des contraintes et des considérations.

### Pesticide : Paramove®

L'ingrédient actif du Paramove® est le peroxyde d'hydrogène. Cette substance est réactive, ne se bioaccumule pas dans les tissus (Schmidt *et al.* 2006, Burridge 2013) et subit une dégradation accélérée en fonction de divers facteurs comme l'activité enzymatique, la température, l'intensité de la lumière et le pH. De plus, le peroxyde d'hydrogène est un sous-produit dérivé du métabolisme cellulaire et est naturellement présent dans l'environnement, en petites quantités (MassDEP 2010), ce qui en fait un facteur à prendre en compte lors de l'analyse et de l'interprétation.

**Contrainte avec le Paramove® : Reconnaissant sa susceptibilité à une dégradation rapide, le peroxyde d'hydrogène n'est pas considéré comme étant un analyte cible adéquat pour la détection dans les tissus de poisson.**

Des preuves histologiques ont révélé des cas de toxicité aiguë au peroxyde d'hydrogène chez des saumons quinnat et de l'Atlantique. Les échantillons de branchies présentaient une nécrose et une desquamation de l'épithélium sévères (Johnson *et al.* 1993). D'autres études ont démontré qu'il existe une corrélation significative entre le niveau d'exposition et le degré de dommages causés aux branchies (Kiemer *et al.* 1996). Afin d'évaluer les effets aigus sur les poissons qui pourraient découler d'une exposition au peroxyde d'hydrogène, du tissu branchial doit être prélevé et préservé à l'aide de méthodes appropriées pour une analyse histologique ultérieure. Toutefois, l'histopathologie des branchies peut donner des résultats qui ne sont pas attribuables à un certain produit chimique; ainsi, d'autres preuves peuvent s'avérer nécessaires, dépendamment des objectifs.

**Recommandation** : L'interprétation des dommages histologiques causés aux poissons doit être évaluée en tant qu'indicateur permettant de mieux mesurer les effets aigus d'une exposition potentielle au peroxyde d'hydrogène. Toutefois, l'échantillonnage exige l'utilisation de spécimens vivants et nécessite des procédures de fixation du tissu spécialisées.

### Pesticide : Salmosan®

L'ingrédient actif du Salmosan® est l'azaméthiphos, un insecticide organophosphoré qui agit par inhibition des activités de l'acétylcholinestérase (AChE). Des études ont démontré que l'absorption suivant un traitement topique à l'azaméthiphos est faible chez le saumon. Elles ont aussi révélé que le traitement n'entraîne aucune bioaccumulation et que l'élimination des résidus issus de l'azaméthiphos dans le saumon est rapide (Roth *et al.* 1993, EMEA 1999, Burridge 2013). D'autres études ont permis de décrire, en laboratoire, la dégradation de l'azaméthiphos pendant la préparation des échantillons (Pfenning *et al.* 1999). Dans certaines conditions, et en utilisant des méthodes d'analyse et de manipulation d'échantillonnage adéquates, il est *parfois* possible de mesurer la concentration d'azaméthiphos dans le tissu

immédiatement après l'exposition; toutefois, les facteurs décrits ci-dessus diminuent la confiance envers les résultats négatifs, notamment si les échantillons ont subi une dégradation.

**Contrainte avec le Salmosan® : Reconnaissant que les poissons métabolisent rapidement l'azaméthiphos, celui-ci n'est pas considéré comme étant un analyte cible adéquat pour la détection dans les tissus de poisson.**

En raison du fait que l'azaméthiphos se métabolise et se dégrade rapidement, et de la probabilité de concentrations faibles de résidus, il faut faire appel à une autre approche pour évaluer l'exposition à l'azaméthiphos. Cette approche consiste en des analyses visant à détecter la présence de métabolites et de biomarqueurs. Toutefois, cette approche dépasse le cadre de la présente demande. L'azaméthiphos est un inhibiteur de l'AChE assez puissant présent dans le cerveau des poissons (p. ex., Intorre *et al.* 2004) dont l'activité peut servir à évaluer une éventuelle contamination par les pesticides organophosphorés (p. ex., Kirby *et al.* 2000) Toutefois, afin de pouvoir utiliser l'inhibition de l'AChE comme biomarqueur, il faut recueillir des échantillons vivants ou moribonds (pas morts) et suivre des étapes de préservation du tissu bien précises (p. ex., Jung *et al.* 2007).

**Recommandation** : Il faudrait mener une évaluation plus approfondie des métabolites et des biomarqueurs, afin de déterminer s'ils pourraient servir d'approche alternative ou complémentaire pour déceler l'exposition à l'azaméthiphos chez les poissons.

### Drogue : SLICE®

L'ingrédient actif du SLICE® est le dérivé de l'avermectine, le benzoate d'émamectine (BE). Celui-ci, une fois ingéré, est absorbé dans le tube digestif, puis acheminé vers les autres tissus. Pendant le traitement, le BE s'accumule dans le tissu des poissons d'élevage, à de faibles concentrations. Il est éliminé pendant une période de plusieurs mois, et sa demi-vie d'élimination est d'environ 8,5 à 11,5 jours (Glover *et al.* 2010). Le BE a été mesuré dans le sang, le mucus et le tissu musculaire des saumons d'élevage, pendant et après le traitement prescrit (Sevatdal *et al.* 2005).

Des trois agents chimiothérapeutiques actuellement utilisés au Canada, le traitement SLICE®, dont l'agent est ajouté à la nourriture, est celui qui a l'ingrédient le plus stable et le plus actif (BE), ce qui permettrait la détection dans les tissus des poissons.

## Contraintes et considérations

De nombreuses contraintes et de nombreux éléments doivent être pris en considération au moment de mettre en œuvre l'avis fourni dans la présente réponse. Ces contraintes et considérations sont les suivants :

### Contraintes

1. L'avis sur l'échantillonnage fourni dans la présente réponse englobe les poissons ainsi que les mollusques et crustacés (bivalves et crustacés). La définition de poisson du RAA est la même que celle de la *Loi sur les pêches* (L.R.C.,1985, ch. F-14); toutefois, l'échantillonnage comporte des limites sur le plan pratique associées aux protocoles d'échantillonnage recommandés visant à couvrir la définition complète. En conséquence, un avis sur l'échantillonnage sera fourni à l'exception des mammifères marins; des parties de mollusques, de crustacés ou d'animaux marins; de même que les œufs; le sperme; le frai; les larves; le naissain des mollusques, des crustacés et des animaux

marins. L'échantillonnage des stades juvéniles des poissons sera limité aux classes de taille observées à une installation aquacole.

2. L'avis fait référence à des produits chimiothérapeutiques utilisés contre le pou du poisson actuellement utilisés au Canada : Salmosan®, Paramove® et SLICE®. Si de nouveaux traitements chimiothérapeutiques sont mis au point ou si surviennent des inquiétudes relatives à l'utilisation de produits non autorisés, la norme de surveillance de l'aquaculture devra être mise à jour en conséquence.

Considérations

1. L'approche à la surveillance décrite ici exclut l'échantillonnage systématique ou répété (normalement sous-entendu par le terme « surveillance ») et, plus précisément, elle décrit l'échantillonnage en réponse à un événement.
2. L'avis fourni ne prend en compte que les exigences d'échantillonnage relatives aux analyses chimiothérapeutiques. Dans certains cas où la mort d'organismes peut découler de facteurs autres que des produits chimiothérapeutiques ou impliquer des produits chimiothérapeutiques qui ne laissent pas de résidus détectables dans les tissus, d'autres indicateurs de la santé ou biomarqueurs d'exposition pourraient devoir être mesurés, et ces paramètres nécessiteraient des méthodes d'échantillonnage et de préservation particulières. Il serait également important de mesurer les facteurs environnementaux (p. ex., oxygène dissous, pH) et biologiques (p. ex., phytoplancton toxique/dangereux, agents pathologiques) susceptibles d'entraîner la mort ou d'accroître la sensibilité du poisson à l'exposition aux produits chimiothérapeutiques. Dans de telles circonstances, d'autres avis spécifiques pourraient être nécessaires, selon le jugement de la personne responsable d'interpréter l'information.
3. Toute analyse des produits chimiothérapeutiques chez un poisson suspect devrait être appuyée par des mesures biologiques pertinentes (âge, sexe, état reproducteur, espèce ou détermination de stock) qui contribueraient à l'interprétation des données analytiques. Les espèces indigènes sauvages devront être distinguées des espèces d'élevage. Cette information pourrait aussi aider à déterminer si, par exemple, les poissons ont été rejetés en tant que prises accidentelles lors d'une pêche, et non touchés par des opérations aquacoles.
4. Si d'autres opérations aquacoles ont lieu à proximité, il serait important d'analyser les échantillons de tissus pour divers produits antiparasitaires.
5. L'avis sur l'échantillonnage pourrait être mis en œuvre lorsque l'eau de traitement est déchargée à partir des bateaux viviers à une certaine distance de sites aquacoles, si la régulation l'exigeait.
6. Un avis sur l'échantillonnage visant à éviter la contamination croisée associée à la collecte de poissons potentiellement malades peut être important, mais il n'est pas abordé ici. L'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) dispose d'une expertise pertinente et d'une certaine autorité de traiter les enjeux en matière de biosécurité pour les producteurs, y compris les exploitants aquacoles, et devrait être consulté sur ces questions.
7. Le présent document est axé sur les aspects techniques de l'échantillonnage. Cependant, les circonstances précises de l'échantillonnage entraîneront des dangers particuliers pour les personnes réalisant cette tâche. Les présentes lignes directrices visent explicitement à ce que les personnes réalisant l'échantillonnage aient reçu une

formation, aient préparé un plan de santé et de sécurité et aient effectué une évaluation des risques propres au site en question.

8. Compte tenu de la nécessité d'assurer l'uniformité et la qualité des échantillons, les personnes réalisant l'échantillonnage doivent recevoir une formation adéquate.
9. Il est possible que des échantillons de sang de poissons morts ou moribonds soient nécessaires aux fins d'analyse, en plus du poisson entier congelé.
10. À l'intérieur d'une période de 96 heures suivant l'immersion ou le rejet de pesticides ou de drogues, les poissons moribonds ou morts seront probablement. La distance et la direction varieront en fonction de l'hydrographie locale.
11. Bien avant un échantillonnage, il est recommandé de réaliser certains travaux préparatoires : 1) déterminer les analytes cibles; 2) définir des méthodes normalisées d'extraction et d'analyse pour tous les analytes cibles, en notant que les exigences relatives aux limites de détermination seraient probablement orientées par les seuils d'effet connu; 3) définir les entreprises de transport et les laboratoires en mesure d'effectuer les analyses et entrer en communication avec ceux-ci afin de déterminer les exigences d'analyse, élaborer les comptes, les politiques et les procédures en lien avec les soumissions d'échantillons et pour élaborer les lignes de communication; 4) confirmer les procédures d'échantillonnage avec le laboratoire pour s'assurer qu'elles répondent aux exigences d'analyse; 5) déterminer les exigences minimales en matière de tissus pour les analyses chimiques avec le laboratoire, de sorte que si de petits poissons sont recueillis, le nombre de poissons requis pour répondre à ces exigences pourra être calculé selon la conception composite. Des tissus supplémentaires pourraient être requis si des extractions distinctes sont nécessaires aux fins de l'analyse de plusieurs produits chimiothérapeutiques, lipides, humidité, etc.
12. L'objectif de l'échantillonnage et de l'analyse devraient être davantage mis au point, car il pourrait avoir une incidence sur les recommandations relatives à la stratégie d'échantillonnage et à la taille de l'échantillon appropriées.
13. Les espèces non ciblées les plus sensibles sont les crustacés, et ceux-ci ne sont pas facilement observables à la surface.

## Conclusions

- La présente réponse des Sciences a été élaborée dans le but de présenter les procédures à suivre lors de la collecte des poissons sauvages moribonds ou morts aux fins d'analyses chimiques des ingrédients actifs trouvés dans des produits chimiothérapeutiques servant à la lutte contre le pou du poisson. Le protocole d'échantillonnage doit être suivi en réponse à un « événement » observé et imprévu, à l'intérieur d'une période de 96 heures suivant l'application d'un produit chimiothérapeutique de lutte contre le pou du poisson à un site piscicole, et ne constitue pas un protocole de surveillance de la présence de produits chimiothérapeutiques chez les poissons sauvages.
- Pour éviter la contamination et assurer une approche uniforme et normalisée, il est recommandé de recueillir les poissons entiers, de les congeler et ensuite de les expédier à un laboratoire aux fins de traitement et d'analyse. La dissection du poisson et la préparation de tissus spécifiques aux fins d'analyse doivent se dérouler à un laboratoire analytique en suivant les méthodes normalisées en fonction de l'espèce, du stade biologique et des exigences analytiques.
- Lorsque c'est possible, un échantillon représentatif d'environ 50 poissons du groupe touché et du groupe de référence pour chaque espèce concernée doit être recueilli. Il est recommandé que 15 poissons de chaque groupe soient analysés pour déterminer les valeurs moyennes et les variances; à cette étape, il est possible de décider si d'autres analyses sont nécessaires afin d'améliorer les analyses statistiques. Les poissons du groupe de référence doivent être sélectionnés de manière à ressembler le plus possible aux poissons touchés en ce qui concerne l'espèce et la taille.
- Avant que les installations aquacoles demandent la collecte des échantillons de poisson, il faut réaliser des travaux préparatoires de manière à ce que des laboratoires soient prêts à recevoir les échantillons, préparer les tissus aux fins de l'analyse et réaliser l'analyse requise des analytes cibles.
- La préservation de l'intégrité des échantillons est primordiale pour assurer l'exactitude des analyses. Les éléments à prendre en compte pour préserver l'intégrité des échantillons sont fournis et doivent être respectés.
- Lors de la collecte des poissons aux fins de l'analyse de l'ingrédient actif des produits chimiothérapeutiques de lutte contre le pou du poisson présente dans les échantillons de tissu, il est important de tenir compte de toute limite relative aux analytes cibles. Dans ce cas, il convient de noter que le peroxyde d'hydrogène et l'azaméthiphos, les ingrédients actifs du Paramove® et du Salmosan®, seraient des cibles inefficaces dans le cadre de la surveillance des produits chimiques.
- L'avis fourni dans la présente réponse est restreint par un certain nombre de limitations, de considérations et de recommandations qui doivent être prises en compte au moment de mettre en œuvre cet avis.
- Même si l'avis est axé sur la série de produits chimiothérapeutiques de lutte contre le pou du poisson actuellement utilisés au Canada, les méthodes de collecte, de préservation et de transport des échantillons présentées peuvent être suivies au moment de recueillir des poissons moribonds ou morts sans connaître le produit chimiothérapeutique en question.

## Collaborateurs

| Nom | Affiliation |
|---|---|
| Richard Addison | R.F. Addison Environmental Consulting Ltd. |
| Ingrid Burgetz | Pêches et Océans Canada, RCN |
| Les Burridge | Burridge Consulting |
| Corina Busby | Coprésidente, Pêches et Océans Canada, RCN |
| Jon Chamberlain | Direction générale de la gestion de l'aquaculture, Pêches et Océans Canada, Région du Pacifique |
| Catherine Couillard | Pêches et Océans Canada, Région du Québec |
| Cory Dubetz | Groupe national consultatif sur les contaminants, Pêches et Océans Canada, Région du Pacifique |
| Åsa Kestrup | Secrétariat canadien de consultation scientifique, Pêches et Océans Canada, RCN |
| Judith Leblanc | Groupe national consultatif sur les contaminants, Région du Québec |
| Monica Lyons | Pêches et Océans Canada, Région des Maritimes |
| Sharon McGladdery | Pêches et Océans Canada, Région des Maritimes |
| Jay Parsons | Coprésident, Pêches et Océans Canada, RCN |
| Ed Porter | Direction générale de la gestion de l'aquaculture, Pêches et Océans Canada, RCN |
| Jordana van Geest | Golder Associates Ltd. |

## Approuvé par

Wayne Moore, directeur général, Stratégies et régulations des sciences, Pêches et Océans Canada, Région de la capitale nationale

Approuvé le 17 juillet 2014

## Sources de renseignements

Bright, D.A. et Dionne, S. 2005. Use of emamectin benzoate in the Canadian finfish aquaculture industry: A review of environmental fate and effects. Préparé pour Environnement Canada.

Burridge, L. 2013. A review of potential environmental risks associated with the use of pesticides to treat Atlantic salmon against infestations of sea lice in southwest New Brunswick, Canada. Secr. can. de consult. sci. du MPO. Doc de rech. 2013/050. iv + 25 p.

EMA. Committee for Veterinary Medicinal Products. 1999. Azamethiphos Summary Report (2). London, UK. 5 p.

Glover, A., Samuelsen, O.B., Skilbrei, O.T., Boxaspen, K., et Lunestad, B.T. 2010. Pharmacokinetics of emamectin benzoate administered to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts by intra-peritoneal injection. J. Fish Dis. 33: 183-186.

Horsberg, T.E. 2012. Avermectin Use in Aquaculture. Current Pharmaceut. Biotechnol. 13: 1095-1102.

Ikonomou, M., Teas, H.J., Gerlach, R., Higgs, D., et Addison, R.F. 2011. Residues of PBDEs in Northeastern Pacific marine fish: evidence for spatial and temporal trends. Environ. Toxicol. Chem. 30: 1261-1271.

Intorre, L., Soldania, G., Cognetti-Varriale, A.M, Monni, G., Meucci, V., et Pretti, C. 2004. Safety of azamethiphos in eel, seabass and trout. Pharmacol. Res. 49: 171-176.

Jung, J.-H., Addison, R.F., et Shim, W.J. 2007. Characterization of cholinesterases in marbled sole, *Limanda yokohamae,* and their inhibition *in vitro* by the fungicide iprobenfos. Mar. Environ. Res. 63: 471-478.

Johnson, S.C., Constible, J.M., et Richard, J. 1993. Investigations on the efficacy of hydrogen peroxide against the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and its toxicological and histopathological effects on Atlantic salmon *Salmo salar* and chinook salmon *Oncorhynchus tshawytsch.* Dis. Aquat. Org. 17: 197-204.

Kiemer, M.C.B., et Black, K.D. 1996. The effects of hydrogen peroxide on the gill tissues of Atlantic salmon, *Salmo salar*. Aquaculture. 53: 181-189.

Kirby, M.F., Morris, S., Hurst, M., Kirby, S.J., Neall, P., Tylor, T., et Fagg, A. 2000. The use of cholinesterase activity in flounder (*Platichthys flesus*) muscle tissue as a biomarker of neurotoxic contamination in UK estuaries. Mar. Pollut. Bull. 40: 780-791.

Massachusetts Department of Environmental Protection (MassDEP). 2010. Hydrogen Peroxide, Peracetic Acid and Sodium Percarbonate. 17 p.

MPO. 2013a. Lignes directrices visant à définir l'exposition potentielle et les effets biologiques connexes issus des traitements des parasites et des agents pathogènes en aquaculture : bain contre le pou du poisson dans la baie de Fundy (Nouveau-Brunswick). Secr. can. de consult. sci. du MPO, Avis sci. 2012/070.

MPO. 2013b. Exposition potentielle et effets biologiques connexes issus des traitements des parasites et des agents pathogènes en aquaculture : pesticides contre le pou du poisson (partie ii). Secr. can. de consult. sci. du MPO, Avis sci. 2013/049.

Pfenning, A.P., Roybal, J.E., Turnipseed, S.B., Gonzales, S.A., et Hurlbut, J.A. 1999. Determination of Residues of Azamethiphos in Salmon Tissue by Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. Journal of AOAC International. 82: 1224-1228.

Rosner, B. 2010. Fundamentals of Biostatistics, 7th Ed, Cengage Learning. 888p.

Roth, M., Richards, R.H., et Sommerville, C., 1993. Current practices in the chemotherapeutic control of sea lice infestations in aquaculture: A review. J. Fish Dis. 16: 1-26.

Schmidt, L.J., Gaikowski, M.P., et Gingerich, W.H. 2006. Environmental Assessment for the Use of Hydrogen Peroxide in Aquaculture for Treating External Fungal and Bacterial Diseases of Cultured Fish and Fish Eggs. U.S. Geological Survey, Biological Resources Division Upper Midwest Environmental Sciences Center. La Crosse, Wisconsin, USA. 54603. 73 p.

Sevatdal, S., Magnusson, A., Ingebrigtsen, K., Haldorsen, R., et Horsberg, T.E. 2005. Distribution of emamectin benzoate in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). J. Vet. Pharmacol. Therap. 28: 101-107.

United States Environmental Protection Agency (USEPA). 2000. Guidance for Assessing Chemical Contaminant Data for Use in Fish Advisories. Volume 1. Fish Sampling and Analysis,Third Edition. Office of Science and Technology Office of Water. Washington, DC. 20460. p. 6-57 – 6-60.

UPS: Shipping with Coolants and Refrigerants (Dry Ice) (consulté le 10 juillet 2014).

# Annexe 1

Le nombre d'échantillons requis aux fins de l'analyse des résidus d'émamectine à la suite d'une mortalité accidentelle ou d'un événement similaire peut être calculé si certaines hypothèses concernant les doses possibles, les concentrations dans les tissus et leur variance sont formulées.

Bright et Dionne (2005) déclarent que la dose thérapeutique d'émamectine pour le saumon de l'Atlantique est de 0,05 mg/kg/jour dans la nourriture pour 7 jours (on suppose qu'il s'agit de la dose par kilogramme du poids humide du poisson). Cela correspond à une dose totale sur 7 jours de 0,35 mg/kg. Glover *et al* (2010) ont traité des saumons de l'Atlantique (poids d'environ 50 g) par voie intrapéritonéale avec une dose de 0,40 mg/kg d'émamectine, puis, après 14 jours, ont mesuré des concentrations dans les tissus musculaires de 0,167 ± 0,044 mg/kg (moyenne ± ÉT), c.-à-d. l'ÉT correspondait à environ 25 % de la concentration moyenne de résidus. (Ce ratio de l'ÉT moyen était plutôt uniforme pour les doses d'émamectine variant entre 0,1 et 0,8 mg/kg). Même si les données de Glover *et al.* (2010) font référence à l'injection par voie intrapéritonéale, on suppose qu'aux fins du calcul suivant l'absorption d'émamectine par voie orale (nourriture) se situerait dans le même écart de valeurs que l'absorption par voie intrapéritonéale.

Tel que discuté dans texte principal, il est recommandé qu'à la suite d'un événement, des échantillons des poissons touchés soient prélevés de la population supposément contaminée et d'une population « de référence » qui n'a pas été exposée à l'émamectine. Le fondement statistique du calcul du nombre d'échantillons provenant *de poissons touchés et de poissons de référence* est décrit dans l'équation 8.26 de Rosner (2010).

$$n = [(\sigma_1^2 + \sigma_2^2)\,(z_{(1-\alpha/2)} + z_{(1-\beta)})^2]/(\mu_1 - \mu_2)^2$$

Pour une puissance statistique de 0,8 choisie arbitrairement et une fréquence d'erreurs de type I de 0,05, le second terme de cette équation est une valeur constante de

$$(1{,}96 \pm 0{,}84)^2 = 7{,}84$$

L'équation devient donc la suivante :

$$n = [7{,}84 \times (\sigma_1^2 + \sigma_2^2)]/(\mu_1 - \mu_2)^2$$

où $n$ correspond au nombre d'échantillons requis pour chaque groupe;

$\sigma_1^2$ et $\sigma_2^2$ sont les variances des populations 1 et 2 respectivement;
$\mu_1$ et $\mu_2$ sont les valeurs moyennes des populations 1 et 2 respectivement;
les valeurs de $z$ sont tirées de tableaux statistiques largement disponibles.

En pratique, les valeurs de σ et de μ sont rarement disponibles, et l'ÉT et les valeurs moyennes des *échantillons* doivent être utilisées comme approximations.

En d'autres termes - et peu étonnamment - le nombre d'échantillons requis pour détecter avec certitude une différence significative sur le plan statistique entre deux moyennes est fonction de la variance des données et (inversement) de la différence entre les moyennes.

À l'aide des données tirées de Glover *et al.* (2010) et en supposant que l'enquêteur veut détecter un écart d'un facteur 5 entre les concentrations de résidus chez les poissons de référence et les poissons exposés à une dose thérapeutique d'émamectine (c.-à-d. 0,167 ± 0,044 mg/kg chez les poissons exposés, et 0,033 ± 0,008 mg/kg chez les poissons de référence) avec une puissance statistique de 0,8 et un taux d'erreurs de type i de 0,05, $n$ s'avère correspondre (étonnamment) à 1 poisson de chaque groupe (figure 1). Cependant, cela reflète l'ÉT très « serré » des données dérivées d'une exposition contrôlée en laboratoire et ne

permet donc pas d'estimer la variance dans les données. Même si la conclusion est valide sur le plan statistique, elle n'est pas utile sur le plan opérationnel. La variance dans les conditions sur le terrain sera probablement plus grande, et la figure 1 illustre aussi le nombre d'échantillons requis *de chaque groupe* pour les variances croissantes. Des expériences menées avec des contaminants organiques de $K_{oe}$ (coefficient de partition octanol/eau) similaires à l'émamectine et absorbés par voie orale (nourriture) ont démontrées que l'ÉT dans les échantillons prélevés sur le terrain est souvent 50 % ou plus des valeurs moyennes (p. ex., Ikonomou *et al.* 2011). Dans le contexte du présent document, il est recommandé de supposer une variance de 100 % par rapport à la moyenne. Cela nécessite une taille de l'échantillon minimale de 13 individus de chaque groupe, qu'il faudrait idéalement arrondir à 15 individus.

Si, au lieu de chercher à obtenir un écart d'un facteur 5 entre les moyennes chez les poissons touchés et les poissons de référence, l'enquêteur cherchait à obtenir un écart d'un facteur 2, 3 ou 4, le nombre d'échantillons de chaque groupe serait de 15, de 19 et de 40 individus respectivement.

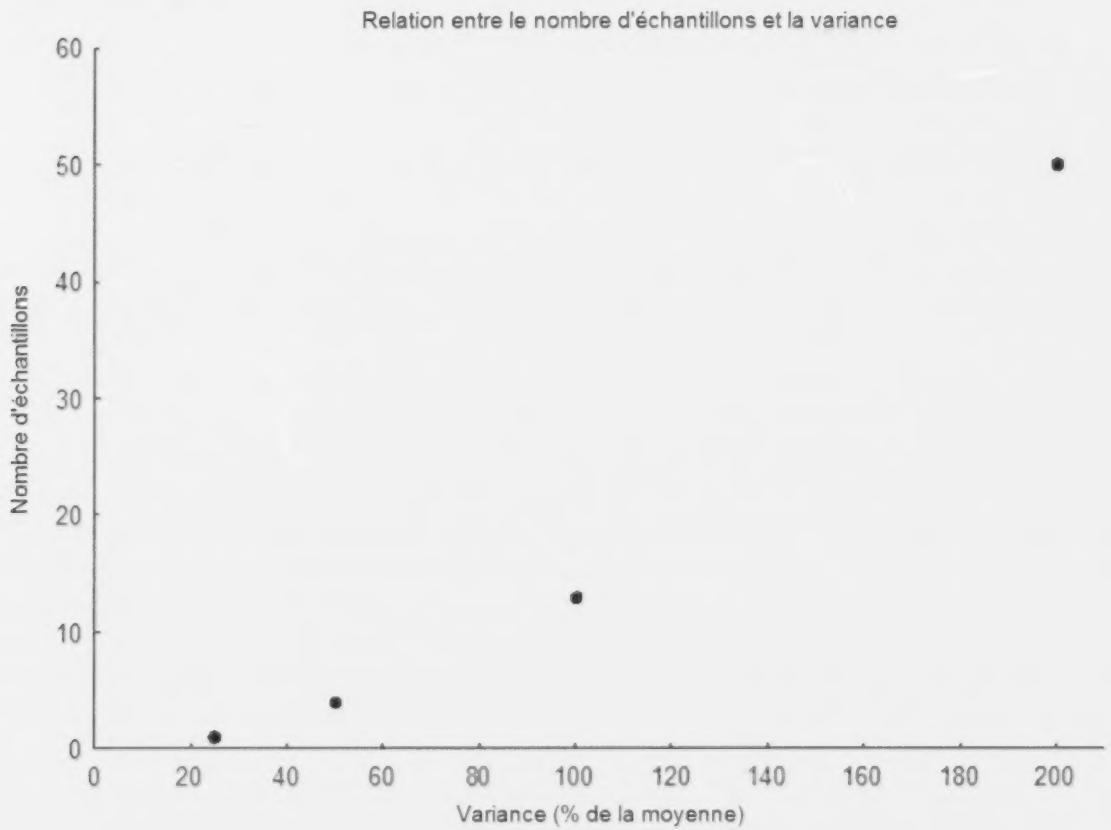


*Figure 1. Le nombre d'échantillons requis pour détecter des concentrations de résidus cinq fois plus élevées chez les poissons touchés que chez les poissons de référence à différents niveaux de variance. Les calculs supposent une puissance de 0,8, un taux d'erreurs de type I de 0,05 et des concentrations de résidus d'après Glover et al. (2010), comme il est décrit dans le texte.*

## Ce rapport est disponible auprès du :

Secrétariat canadien de consultation scientifique (SCCS)
Région de la capitale nationale
Pêches et Océans Canada
200, rue Kent, Ottawa (Ontario) K1A 0E6

Téléphone : 613-990-0293
Courriel : csas-sccs@dfo-mpo.gc.ca
Adresse Internet : www.dfo-mpo.gc.ca/csas-sccs/

ISSN 1919-3815
© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, 2014

La présente publication doit être citée comme suit :

MPO. 2014. Avis relatif à l'échantillonnage de carcasses de poissons sauvages dans le cadre de la norme de surveillance de l'aquaculture du projet de *Règlement sur les activités liées à l'aquaculture*. Secr. can. de consult. sci. du MPO, Rép. des Sci. 2014/042.

*Also available in English:*

*DFO. 2014. Advice Related to the Sampling of Wild Fish Carcasses for the Proposed Aquaculture Activities Regulations Aquaculture Monitoring Standard. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Sci. Resp. 2014/042.*